

# PETUNJUK TEKNIS PENGAMBILAN SAMPEL



DEPARTEMEN KELAUTAN DAN PERIKANAN  
DIREKTORAT JENDERAL PERIKANAN BUDIDAYA  
BALAI BESAR PENGEMBANGAN BUDIDAYA LAUT  
LAMPUNG  
2007

## KATA PENGANTAR

Usaha budidaya laut secara intensif di Indonesia menunjukkan perkembangan yang pesat, terutama untuk jenis-jenis ikan dengan nilai ekonomis tinggi. Seiring dengan Perkembangan tersebut, kejadian penyakit merupakan salah satu kendala utama dalam keberhasilan usaha budidaya. Sementara tidak semua pengusaha/pembudidaya mengetahui teknik pengambilan sampel dengan benar, dalam upaya mengetahui penyakit yang menyerang ikan budidaya.

Penerapan sistem pengelolaan lingkungan dan kesehatan ikan yang efektif, efisien dan diterima oleh masyarakat merupakan sebuah kebutuhan bagi keberhasilan usaha budidaya yang dijalankan. Teknik pengambilan sampel air dan ikan yang akan diperiksa merupakan salah satu faktor penting dalam usaha pengelolaan kesehatan ikan secara umum, terutama berhubungan dengan pencegahan penyebaran penyakit yang lebih luas.

Buku ini berisi tentang hasil pengkajian yang dilakukan oleh Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut, dan sebagian besar telah diterapkan. Diharapkan dengan diterbitkannya buku tentang Petunjuk Teknis Pengambilan Sampel ini dapat dijadikan sebagai salah satu pedoman dalam pengambilan sampel oleh praktisi di lapangan.

Bandar Lampung, Oktober 2007  
Balai Besar Pengembangan Budidaya Laut  
Kepala,

**Ir. Sudjiharno**

## DAFTAR ISI

|                                                                                                                        | Hal |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| KATA PENGANTAR .....                                                                                                   | i   |
| DAFTAR ISI .....                                                                                                       | iii |
| DAFTAR GAMBAR .....                                                                                                    | v   |
| DAFTAR TABEL .....                                                                                                     | vii |
| BAB I. PENDAHULUAN .....                                                                                               | 1   |
| BAB II. TEKNIK PENGAMBILAN SAMPEL AIR, TANAH DAN SEDIMEN UNTUK<br>ANALISA SENYAWA-SENYAWA NITROGEN, FOSFAT DAN SULFIDA |     |
| 2.1 Persiapan Pengambilan Sampel .....                                                                                 | 3   |
| 2.2 Melakukan QA (Quality Assurance) .....                                                                             | 4   |
| 2.3 Pelaksanaan Pengambilan Sampel .....                                                                               | 6   |
| BAB III. TEKNIK PENGAMBILAN SAMPEL AIR UNTUK ANALISA PLANKTON                                                          |     |
| 3.1. Sampel untuk analisa kualitatif .....                                                                             | 11  |
| 3.2. Alat dan metode pengambilan sampel .....                                                                          | 11  |
| 3.3. Pengawetan .....                                                                                                  | 13  |
| BAB IV. TEKNIK PENGAMBILAN SAMPEL AIR, SEDIMEN, SESTON DAN<br>BIOTA UNTUK PENGUKURAN LOGAM BERAT                       |     |
| 4.1 Persiapan Alat dan Bahan .....                                                                                     | 14  |
| 4.2 Pelaksanaan Pengambilan Sampel .....                                                                               | 15  |
| BAB V. PENGAWETAN SAMPEL AIR UNTUK ANALISA KUALITAS AIR DAN<br>LOGAM BERAT                                             |     |
| 5.1 Pengawetan Sampel Untuk Analisa Kualitas Air .....                                                                 | 18  |
| 5.2 Pengawetan Sampel Untuk Analisa Logam Berat .....                                                                  | 19  |
| 5.3 Sumber-sumber Kontaminasi .....                                                                                    | 20  |
| BAB VI. TEKNIK PENGAMBILAN SAMPEL IKAN DAN UDANG UNTUK<br>PEMERIKSAAN PENYAKIT                                         |     |
| 6.1 Syarat Pengambilan Sampel .....                                                                                    | 23  |
| 6.2 Pengambilan Sampel .....                                                                                           | 24  |
| 6.3 Penentuan Jumlah Sampel .....                                                                                      | 25  |
| 6.4 Prosedur Sampling .....                                                                                            | 26  |

|                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------|----|
| BAB VII. PREPARASI DAN PENGELOLAAN SAMPEL DALAM PEMERIKSAAN  |    |
| PENYAKIT                                                     |    |
| 7.1 Anatomi Ikan .....                                       | 28 |
| 7.2 Preparasi, Preservasi dan Teknik Pengiriman Sampel ..... | 30 |
| DAFTAR PUSTAKA .....                                         | 36 |

## DAFTAR GAMBAR

### Gambar

|    |                                                                              |    |
|----|------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1  | Analisa senyawa nitrogen, fosfat dan sulfide .....                           | 8  |
| 2  | Peralatan pengambilan sampel air dan sedimen .....                           | 10 |
| 3  | Botol Van Dorn .....                                                         | 11 |
| 4  | Botol Biasa .....                                                            | 11 |
| 5  | Plankton Net .....                                                           | 12 |
| 6  | Contoh Pengawetan Fisik .....                                                | 18 |
| 7  | Bahan kimia pengawet sampel air untuk analisa logam berat .....              | 19 |
| 8  | Bahan pengawet untuk analisa logam berat selain Hg .....                     | 20 |
| 9  | Jenis-jenis wadah sampel air untuk analisa logam berat .....                 | 21 |
| 10 | Gambaran populasi dan unit yang membentuk populasi .....                     | 26 |
| 11 | Gambaran anatomi makroskopik permukaan tubuh ikan bersirip .....             | 27 |
| 12 | Gambaran anatomi makroskopik organ dalam tubuh ikan bersirip .....           | 28 |
| 13 | Anatomi tubuh udang .....                                                    | 28 |
| 14 | Nekropsi ikan .....                                                          | 29 |
| 15 | Teknik Pengepakan Ikan .....                                                 | 31 |
| 16 | Pembuatan preparat film darah .....                                          | 32 |
| 17 | Cara penyusunan preparat film darah dan preparat tempel tekan jaringan ..... | 33 |

## DAFTAR TABEL

|   |                                                                                           |    |
|---|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 | Jenis wadah sampel air dan pengawetnya berdasarkan parameter uji .....                    | 19 |
| 2 | Jumlah sampel dalam populasi berdasarkan tingkat prevalensi .....                         | 24 |
| 3 | Jumlah sampel benih ikan atau udang yang diperlukan untuk pemeriksaan<br>kenormalan ..... | 25 |

## BAB I PENDAHULUAN

Dalam melakukan kegiatan sampling, alur kegiatan yang harus diperhatikan oleh seorang PPC (petugas pengambil contoh) adalah memperhatikan teknik pengambilan sampel dan preparasi sampel di lapangan, baik sampel air, biota maupun sedimen.

Keberhasilan analisa ditentukan oleh keberhasilan dalam pengambilan sampel. Petugas pengambil contoh (PPC) harus menguasai teknik pengambilan sampel baik sampel biota (ikan dan udang), air maupun sedimen. Teknik pengambilan sampel biota, air dan sedimen untuk analisa penyakit dan analisa kualitas air pada prinsipnya sama, tetapi preparasi yang dilakukan berbeda tergantung kepentingannya.

Rendahnya tingkat ketelitian dan ketepatan data analisa terutama disebabkan oleh kesalahan cara pengambilan sampel, pengawetan serta cara analisisnya di laboratorium, sedangkan data yang tidak representatif disebabkan oleh kesalahan dalam penentuan lokasi sampling. Oleh karena itu PPC di lapangan harus memperhatikan teknik-teknik dalam pengambilan dan pengawetan sampel sesuai dengan pengujian parameternya.

Dalam pengambilan sampel air, pengawetan sampel merupakan hal yang sangat penting dilakukan. Hal ini disebabkan parameter yang akan dianalisa dapat mengalami perubahan senyawa (misalnya nitrat berubah menjadi nitrit dan amoniak). Selain itu pengawetan bertujuan agar tidak terjadi *lost and contamination* (penurunan kadar dan kontaminasi) karena mengendap, menguap atau adsorpsi oleh dinding tempat sampel air, sehingga sampel air yang sampai ke laboratorium tidak utuh lagi, oleh karena itu kualitas data yang dihasilkan laboratorium sangat tergantung pada keutuhan sampel uji yang dibawa. Terjadinya *lost* mengakibatkan hasil analisa lebih rendah dibandingkan dengan kadar yang sebenarnya dalam sampel, sedangkan kontaminasi adalah sebaliknya.

Beberapa cara pengawetan sampel tergantung dari jenis parameter uji, namun dianjurkan agar membawa sampel secepat mungkin ke laboratorium dan melakukan analisa atau mengawetkan sampel selama memungkinkan. Jenis bahan pengawet yang

digunakan dan lama penyimpanan berbeda-beda tergantung pada jenis parameter yang akan diuji.

Hal lain yang juga perlu diperhatikan adalah terjadinya kontaminasi yang berasal dari pengawet yang digunakan, oleh karena itu perlu dilakukan tes secara teratur dan berkala untuk mengetahui apakah bahan pengawet yang digunakan juga mengandung parameter yang akan dianalisa.

**BAB II**  
**TEKNIK PENGAMBILAN SAMPEL AIR, TANAH DAN SEDIMEN UNTUK**  
**ANALISIS SENYAWA-SENYAWA NITROGEN, FOSFAT DAN SULFIDA**

Oleh :  
**Muawanah, Nira Sari dan Tri Haryono**

Banyak faktor yang dapat mempengaruhi data hasil analisa sampel menjadi bias, salah satunya adalah kesalahan pada tahap pengambilan sampel. Menurut Agustini (2007), kesalahan pada tahap ini memberikan andil penurunan akurasi data antara 5 – 30 %. Data dengan tingkat akurasi yang rendah dapat menyebabkan pengambilan kesimpulan tidak sesuai dengan kondisi di lapangan.

Mengingat beberapa senyawa nitrogen, fosfat dan sulfida mempunyai sifat ikatan ion yang labil, maka untuk menghindari bias data yang tajam diperlukan teknik pengambilan sampel yang sesuai dengan prosedur operasional. Sampel yang diambil harus memenuhi persyaratan baik secara kualitatif, kuantitatif dan representatif.

**2.1. Persiapan Pengambilan Sampel**

Pada saat melakukan pengambilan sampel di lapangan sebaiknya sampel yang diambil mewakili area pengambilan, supaya data yang dihasilkan representatif (mewakili). Oleh karena itu beberapa faktor yang harus diperhatikan sebelum kegiatan pengambilan sampel dilakukan adalah :

- a. Mempelajari semua latar belakang baik dari literatur maupun informasi lisan yang menyangkut kondisi area/lokasi pengambilan sampel, meliputi ; karakteristik topografi, kontur kedalaman, tekstur dasar perairan, pola arus, prediksi luasan area sampling, musim/cuaca, sumber cemaran yang terkait langsung dengan limbah penghasil senyawa-senyawa nitrogen, fosfat dan sulfida, keberadaan sungai, debit sungai, dan sebagainya.
- b. Membuat daftar parameter yang akan dianalisa/diukur.
- c. Menetapkan jumlah titik dan frekuensi pengambilan sampel sesuai dengan tujuan penelitian/pengujian.
- d. Menyiapkan peralatan sampling sesuai dengan ketentuan dan spesifikasi material untuk tiap parameter uji.
- e. Menyiapkan peralatan keselamatan kerja sesuai standar yang ditetapkan serta pendokumentasian seluruh kegiatan sampling.

## **2.2. Melakukan QA (*Quality Assurance*)/ Penjaminan Kualitas Lapangan**

QA (*Quality Assurance*) adalah suatu prosedur yang harus diikuti untuk menjamin agar suatu data yang dihasilkan mempunyai tingkat kebenaran yang tinggi. Dalam kegiatan pengambilan sampel, jaminan kualitas lapangan meliputi ;

- a. Perlindungan sampel dari adanya kontaminasi dan penguapan
- b. Pengendalian kualitas sampel di lapangan.

### **2.2.1. *Perlindungan sampel dari adanya kontaminasi dan penguapan***

Faktor kontaminasi pada umumnya menyebabkan data hasil analisa nilainya menjadi lebih besar dari nilai yang sebenarnya, sedangkan penguapan adalah sebaliknya, yaitu menyebabkan data hasil analisa nilainya menjadi lebih kecil dari nilai yang sebenarnya. Untuk menghindari kedua hal tersebut, maka diperlukan beberapa tindakan sebagai berikut ;

- a. Botol-botol tempat sampel air harus dicuci dengan deterjen terlebih dahulu sampai bersih.
- b. Botol dibilas satu kali dengan asam kromat atau asam klorida 6 N.
- c. Botol dibilas ulang dengan air suling bebas ion, bebas amoniak, bebas nitrit sesuai dengan parameter uji. Khusus botol tempat sampel untuk parameter fosfat tidak diperbolehkan dicuci dengan menggunakan deterjen karena dapat meningkatkan kontaminan unsur P. .
- d. Setelah botol sampel dicuci, maka harus ditempatkan pada boks tertutup, untuk menghindari kontaminasi debu/kotoran-kotoran lain yang tidak dikehendaki.
- e. Botol sampel sebaiknya diberi tanda khusus sesuai parameter yang akan dianalisa.
- f. Pada saat pengambilan sampel di lapangan apabila ada botol sampel yang terkena tumpahan/tetes minyak di kapal, maka harus segera dipisahkan dan tidak boleh digunakan lagi.
- g. Kebersihan tangan petugas pengambil sampel harus tetap terjaga.
- h. Petugas tidak diperbolehkan merokok selama pengambilan sampel, karena dapat menyebabkan kontaminasi silang.
- i. Penggunaan filter / unit penyaring harus terlebih dahulu dicuci dengan asam, kemudian dibilas dengan air suling setelah itu harus disimpan secara tertutup atau dalam plastik.
- j. Kertas saring yang akan digunakan harus dicuci terlebih dahulu dengan air suling bebas ion, bebas amoniak dan bebas nitrit sesuai dengan parameter uji.

- k. Volume es batu / *dry ice* yang ada dalam boks penyimpan sampel harus cukup, untuk menjamin kondisi temperatur yang stabil.
- l. Pada saat pengambilan sampel di perairan terbuka, sebaiknya sampel tidak diambil di bagian buritan kapal karena banyak tumpahan minyak yang dapat menyebabkan kontaminasi. Jadi sebaiknya sampel diambil dari bagian depan kapal.

### **2.2.2. Pengendalian kualitas sampel di lapangan.**

Pengendalian kualitas sampel di lapangan (*Field Quality Control*) berfungsi untuk mengetahui ada tidaknya kontaminasi silang dan kesalahan-kesalahan sistematis yang umumnya sering terjadi pada saat pengambilan sampel, terutama sampel air.

Untuk pelaksanaan pengendalian kualitas sampel di lapangan ini dilakukan dengan 2 (dua) cara, yaitu dengan pembuatan larutan blanko yang dibawa ke lapangan dan duplikasi sampel.

#### **(i). Pembuatan larutan blanko untuk dibawa ke lapangan**

Pembuatan larutan blanko lapangan dilakukan dengan cara :

- a. Botol sampel diambil dari kumpulan botol yang akan dibawa ke lokasi sampling
- b. Botol diambil secara acak
- c. Botol diisi dengan larutan blanko sesuai dengan parameter uji, yaitu :
  - Air suling bebas nitrit, untuk analisa nitrit
  - Air suling bebas amoniak, untuk analisa amoniak
  - Air laut buatan bebas nitrit, untuk analisa nitrat
  - Air suling bebas ion, untuk analisa fosfat dan sulfida
- d. Larutan blanko sampel tersebut dibawa ke lapangan
- e. Tempatkan pada boks yang sama dengan botol-botol sampel yang lain. Di lapangan, larutan blanko kemudian dilewatkan melalui water sampler (alat pengambil sampel air) dan ditampung lagi dalam botol sampel lain
- f. Larutan blanko ditempatkan lagi bersama botol-botol yang sudah berisi sampel.
- g. Selanjutnya larutan blanko diperlakukan sama dengan sampel.

#### **(ii). Duplikasi sampel**

Sampel duplikat dibuat dengan cara membagi sampel yang sama (yang diambil dari *water sampler*) ke dalam dua atau lebih botol sampel. Duplikasi sampel ini dilakukan untuk mengetahui kesalahan yang disebabkan oleh kontaminasi, kesalahan sistematis

serta faktor-faktor lain selama proses kegiatan pengambilan sampel. Sampel duplikat tetap diperlakukan sama dengan sampel.

## **2.3. Pelaksanaan Pengambilan Sampel**

### **2.3.1. Pengambilan sampel air**

#### **(i). Analisa parameter amoniak ( $\text{NH}_3\text{-N}$ )**

Faktor-faktor di lapangan yang dapat menyebabkan nilai bias pada hasil analisa amoniak di laboratorium, yaitu ;

- a. Adanya peningkatan suhu karena perbedaan antara suhu air dan udara pada saat proses pengambilan sampel, sehingga sebagian senyawa amoniak akan lepas.
- b. Guncangan selama transportasi dari lapangan ke laboratorium juga menyebabkan senyawa amoniak hilang.
- c. Keberadaan partikel-partikel tersuspensi dalam air, misalnya karena ada peningkatan populasi fitoplankton yang cukup melimpah dan pengadukan massa air baik secara alami maupun karena faktor lain. Hal tersebut dapat menyebabkan penambahan senyawa amoniak pada sampel karena adanya faktor ekskresi (pembuangan) dan proses dekomposisi (pembusukan).

Pada saat pengambilan sampel perlu diperhatikan hal-hal sebagai berikut :

- a. Sampel air dari alat *Van Dom* atau *Nansen* atau dari slang *Panti Benih (Hatchery)*, harus secepatnya dipindahkan ke botol sampel dengan melalui dinding botol sehingga tidak menimbulkan gelembung-gelembung udara.
- b. Pengisian dilakukan sampai penuh dan dipastikan tidak ada celah/ruang antara sampel air dengan tutup botol.
- c. Apabila sampel air secara visual tampak banyak partikel yang melayang-layang dan kotor, maka segera dilakukan penyaringan sampel menggunakan kertas saring dengan diameter pori  $0,45\mu\text{m}$ .
- d. Sampel air disimpan dalam boks tertutup yang telah diisi es batu, suhu dalam boks diupayakan sekitar  $4^\circ\text{C}$  dan secepatnya dilakukan proses analisa.
- e. Apabila sesampai di laboratorium sampel air tidak segera dianalisa, maka sampel disimpan dalam freezer pada suhu  $-20^\circ\text{C}$ .
- f. Jika sampel tidak dibekukan, maka dapat ditambahkan larutan fenol sebanyak 10 ml per 250 ml sampel air atau dapat juga digunakan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  sebanyak 0,2 ml per 250 ml sampel air (untuk penggunaan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  sampel harus dinetralkan terlebih dahulu dengan  $\text{NaOH}$  apabila akan dianalisis).

- g. Sampel yang telah diberi bahan pengawet kemudian harus tetap disimpan pada suhu 4°C, sampel bisa bertahan selama lebih kurang 4 minggu.

**(ii). Analisa parameter nitrit ( $\text{NO}_2\text{-N}$ ) dan nitrat ( $\text{NO}_3\text{-N}$ )**

- a. Peralatan pengambil sampel untuk analisa nitrit dan nitrat tidak diperbolehkan dari bahan-bahan yang terbuat dari logam, karena logam mudah teroksidasi. Untuk pengambilan sampel sebaiknya digunakan peralatan yang terbuat dari gelas atau PVC.
- b. Teknik pengambilan sampel untuk analisa kedua parameter tersebut dilakukan sama seperti pengambilan sampel untuk analisa amoniak, yaitu :
  - sampel harus secepatnya dipindahkan ke botol sampel dengan melalui dinding botol sehingga tidak menimbulkan gelembung-gelembung udara.
  - Pengisian dilakukan sampai penuh dan dipastikan tidak ada celah/ruang antara sampel air dengan tutup botol.
- c. Apabila sampel secara visual tampak banyak partikel yang melayang-layang dan kotor, maka segera dilakukan penyaringan sampel menggunakan kertas saring dengan diameter pori 0,45µm.
- d. Sampel air kemudian disimpan dalam boks tertutup yang telah diisi es batu, suhu dalam boks diupayakan sekitar 4°C dan secepatnya dilakukan proses analisa.
- e. Apabila sesampai di laboratorium sampel tidak segera dianalisa, maka untuk menghambat aktivitas mikroorganisme sampel untuk analisa nitrit ditambahkan  $\text{HgCl}_2$  sebanyak 4 mg per 100 ml sampel, sampel tersebut harus tetap disimpan dalam suhu dingin.
- f. Sedangkan pada sampel untuk analisa nitrat ditambahkan larutan campuran penahan  $\text{NH}_4\text{Cl}$  sebanyak 1 ml per 100 ml sampel, kemudian segera disimpan dalam freezer.
- g. Kedua sampel tersebut dapat bertahan selama 1 minggu.

**(iii). Analisa parameter fosfat ( $\text{PO}_4\text{-N}$ )**

- a. Botol-botol tempat sampel untuk analisa fosfat harus mendapat perlakuan secara khusus, sehingga harus diberi tanda tersendiri agar tidak tertukar dengan botol-botol sampel yang lain.
- b. Botol sampel untuk analisa fosfat tidak boleh dicuci dengan sabun/deterjen, karena unsur fosfat yang terdapat dalam sabun/detergen akan menyebabkan konsentrasi fosfat dalam sampel akan meningkat.

- c. Botol sampel untuk analisa fosfat harus dicuci terlebih dahulu dengan HCl 6N kemudian dibilas dengan air suling ganda sebanyak 2-3 kali.
- d. Peralatan pengambil sampel air juga tidak diperbolehkan dari bahan-bahan yang terbuat dari logam, karena senyawa fosfat dapat bereaksi dengan logam dan menyebabkan konsentrasi fosfat dalam sampel menjadi berkurang. Demikian juga untuk botol sampel sebaiknya bahan berasal dari gelas atau teflon.
- e. Penggunaan botol plastik tidak dianjurkan, karena bahan plastik dapat menyerap unsur fosfat.
- f. Sampel air dari alat *Van Dom* atau *Nansen* atau dari slang (Panti benih) harus secepatnya dipindahkan ke botol sampel dengan melalui dinding botol sehingga tidak menimbulkan gelembung-gelembung udara.
- g. Pengisian dilakukan sampai penuh dan dipastikan tidak ada celah/ruang antara sampel air dengan tutup botol.
- h. Apabila sampel air secara visual tampak banyak partikel yang melayang-layang dan kotor, maka segera dilakukan penyaringan sampel menggunakan kertas saring dengan diameter pori 0,45 $\mu$ m.
- i. Sampel air kemudian disimpan dalam boks tertutup yang telah diisi es batu suhu dalam boks diupayakan sekitar 4°C dan secepatnya dilakukan proses analisa.
- j. Apabila sesampai di laboratorium sampel air tidak segera dianalisa, maka untuk menghambat aktivitas mikroorganisme pada sampel ditambahkan khloroform sebanyak 1 ml per 100 ml sampel air, kemudian sampel tersebut disimpan dalam freezer. Sampel ini dapat bertahan selama 1 minggu.



Gambar 1. Analisa senyawa nitrogen, phospat dan sulfida

**(iv). Analisa parameter sulfida ( $H_2S$ )**

Hidrogen sulfida adalah senyawa yang bersifat gas, sehingga sangat sensitif terhadap perubahan suhu dan rongga udara dalam botol sampel. Konsentrasi sulfida di perairan termasuk rendah, oleh karena itu pengambilan sampel air untuk analisa sulfida membutuhkan tingkat ketelitian yang cukup tinggi.

- a. Peralatan pengambil sampel air juga tidak diperbolehkan dari bahan-bahan yang terbuat dari logam, karena senyawa sulfida dapat bereaksi dengan logam dan menyebabkan konsentrasi sulfida dalam sampel menjadi berkurang.
- b. Botol sampel yang digunakan adalah botol BOD atau botol sejenis yang terbuat dari gelas atau plastik dan bertutup lancip/kerucut di bagian dalam untuk menghindari adanya rongga udara.
- c. Sampel air dari botol *Van Dom* dimasukkan dalam botol sampel melalui slang karet atau plastik dengan posisi ujung slang menempel pada dasar botol, pengisian dilakukan sampai penuh.
- d. Sampel kemudian disimpan dalam boks tertutup dan dalam kondisi gelap serta bersuhu dingin.
- e. Sampel sebaiknya dianalisa sesegera mungkin (tidak lebih dari 1 jam).
- f. Namun apabila sampel air tidak segera dianalisa, maka untuk menghambat aktivitas mikroorganisme sampel ditambahkan seng asetat 2N sebanyak 2 ml per 100 ml sampel air, kemudian sampel tersebut disimpan dalam freezer. Sampel ini dapat bertahan selama lebih kurang 4 minggu.

**2.3.2. Pengambilan sampel tanah dan sedimen**

Sifat dari senyawa-senyawa nitrogen (amoniak, nitrit dan nitrat), fosfat serta sulfida yaitu mudah bereaksi dengan logam, sehingga untuk pengambilan sampel tanah dan sedimen yang terkait untuk analisa parameter-parameter tersebut di atas sebaiknya tidak menggunakan peralatan yang terbuat dari logam, seperti grab, cangkul, sendok aluminium dsb.

- a. Dalam penerapan di lapangan penggunaan alat pengambil sampel yang terbuat dari gelas atau porselin juga sangat riskan karena mudah pecah, sehingga disarankan menggunakan peralatan yang bahannya dari teflon atau PVC.
- b. Apabila persyaratan alat yang direkomendasikan tidak ada, maka grab bisa digunakan, tetapi sampel yang diambil untuk dianalisa bukan sampel yang bersentuhan langsung dengan dinding grab.
- c. Sampel dari grab kemudian diambil dengan sendok teflon atau sendok polietilen dan dimasukkan dalam wadah sampel. Sampel tidak boleh terkena sentuhan tangan.

- d. Wadah sampel yang baik adalah cawan porselin bertutup (untuk parameter fosfat) atau wadah yang terbuat dari polietilen (untuk parameter nitrogen dan sulfida).
- e. Wadah-wadah sampel sebelum digunakan harus direndam dengan HCl 8N selama 2-3 hari, kemudian dibilas beberapa kali dengan air suling ganda-bebas ion. Setelah itu wadah-wadah tersebut disimpan dalam kantong plastik dan diikat / ditutup rapat.

Untuk pengambilan sampel tanah, harus diperhatikan hal-hal sebagai berikut :

- a. Sedapat mungkin menghindari area yang menjadi pusat/titik akumulasi cemaran dan sampel sebaiknya diambil secara komposit (pencampuran dari beberapa sampel).
- b. Sedangkan untuk sampel sedimen diambil berdasarkan perkiraan pola sebaran horisontal yang berkaitan dengan pola arus di suatu lokasi pengambilan sampel.
- c. Sampel sedimen dari grab atau tabung PVC yang akan dimasukkan dalam wadah sampel, harus diambil dari lapisan permukaan/bagian atas yang banyak mengandung lumpur halus.
- d. Pada saat pengambilan sampel tersebut, sampel tidak boleh terlalu lama kena sinar matahari karena selain menghindari penguapan akibat suhu juga untuk menghindari peningkatan aktivitas mikroba pada sampel.

Selain faktor peralatan pengambil sampel, faktor lain yang dapat mempengaruhi perubahan konsentrasi senyawa-senyawa tersebut di atas pada saat pengambilan sampel adalah kenaikan suhu, dimana interval suhu yang tinggi akan merubah kation anion terhadap valensinya dan berpengaruh terhadap kemampuan reduksi atau oksidasi suatu kondisi senyawa. Oleh karena itu sampel yang diambil harus segera disimpan dalam boks pendingin, pada suhu di bawah 5°C.



Gambar 2. Peralatan pengambilan sampel air dan sedimen

### BAB III

## TEKNIK PENGAMBILAN SAMPEL AIR UNTUK ANALISA PLANKTON

Oleh :  
Atri Triana K, P. Hartono dan Syarifudin

Plankton adalah biota yang hidup pelagis, mengapung dan bergerak karena adanya pergerakan arus air. Biota ini biasa dikelompokkan menjadi 2 (dua) kelompok besar yaitu fitoplankton (plankton tumbuhan) dan zooplankton (plankton hewan). Di laut, fitoplankton memegang peranan penting sebagai produsen primer dan jenis Diatom merupakan produsen primer yang terbanyak. Sedangkan zooplankton, memiliki jumlah jenis dan kepadatan yang lebih rendah daripada fitoplankton.

Analisa plankton pada umumnya dilakukan untuk mengetahui tingkat kesuburan suatu perairan dan saat ini berkembang pula penelitian yang bertujuan mengidentifikasi plankton-plankton berbahaya atau biasa disebut *Harmful Algae*.

### 3.1. Sampel untuk analisa kualitatif (identifikasi jenis)

Peralatan utama pengambilan sampel untuk analisa plankton adalah plankton net. Ukurannya sangat kecil sehingga diperlukan penyaring dengan ukuran mata jaring yang kecil pula. Untuk sampel fitoplankton pada umumnya digunakan plankton net dengan ukuran 20  $\mu\text{m}$ .

### 3.2. Alat dan Metode Pengambilan Sampel

#### a. Botol

Alat pengambil sampel air yang dapat digunakan antara lain botol Van Dorn atau botol biasa.



Gambar 3. Botol Van Dorn



Gambar 4. Botol Biasa

Cara Pengambilan Sampel ;

- Masukkan botol ke dalam air sampai kedalaman yang diinginkan
- Tarik tali penutup botol atau jatuhkan pemberat agar botol van Dorn tertutup
- Tuangkan air dalam botol ke plankton net yang telah diberi tempat penampungan (tempat sampel)
- Air di dalam tempat sampel segera diberi pengawet

**b. Pompa**

- Air dipompa melalui pipa pada kedalaman tertentu
- Alirkan air melalui jaring (plankton net)
- Air yang tertampung di ujung plankton net segera diberi pengawet

**c. Jaring (Plankton net)**

Jaring yang digunakan biasanya berbentuk kerucut dengan kran dan botol penampung pada ujung bawah.



Gambar 5. Plankton net

Cara Pengambilan secara vertikal :

- Masukkan jaring tegak lurus sampai kedalaman yang diinginkan
- Tarik tali untuk mengangkat jaring
- Tuangkan air yang tersaring dengan membuka kran botol penampung
- Cuci plankton net dengan air laut di tempat pengambilan sampel dengan cara mencelupkannya tetapi mulut plankton net tetap di atas permukaan air. Air yang tersaring dimasukkan kembali ke dalam botol penampung.
- Segera diberi pengawet

Cara pengambilan secara horizontal :

- Masukkan jaring yang telah dilengkapi dengan alat flowmeter (meter-alir) pada mulut jaring untuk mengetahui volume air yang tersaring
- Tarik jaring dengan menggunakan kapal
- Tuangkan air tersaring kedalam botol penampungan.
- Segera diberi pengawet

### **3.3. Pengawetan**

Air sampel sebaiknya segera diawetkan sehingga bentuk dan jumlah plankton yang diamati tidak akan berubah. Beberapa pengawetan yang dapat dilakukan adalah :

- a. Penambahan formalin 4 %

Cara pembuatan formalin 4 % adalah dengan menambahkan boraks untuk penetral pada formalin yang dijual bebas (40%). Kemudian 10 ml formalin tersebut dicampurkan dengan 90 ml air laut

- b. Penambahan Lugol 10%

- c. Pendinginan

Air sampel dapat diawetkan dengan cara didinginkan pada suhu  $-10^{\circ}\text{C}$  sampai  $-25^{\circ}\text{C}$  agar metabolisme tubuh tidak bekerja.

## BAB IV

### TEKNIK PENGAMBILAN SAMPEL AIR, SEDIMEN, SESTON DAN BIOTA UNTUK PENGUKURAN LOGAM BERAT

Oleh :  
Atiek Pietoyo, Atri Triana K., Kurniastuty

Pengaruh logam bervariasi mulai dari yang menguntungkan sampai dengan menyebabkan racun berbahaya. Beberapa logam dianggap penting untuk pertumbuhan binatang dan tumbuhan juga manusia. Tingkat kepentingan dan keracunan logam itu sendiri bergantung pada tingkat konsentrasi logam dalam perairan.

Dalam pengambilan sampel yang perlu diperhatikan adalah lokasi yang akan diambil sampelnya harus mewakili lokasi sampel sehingga nilai yang didapat menggambarkan nilai di lokasi tersebut atau sampel tersebut merupakan representatif (mewakili) dari lokasi sampel.

#### 4.1. Persiapan Alat dan Bahan

Sebelum melakukan kegiatan pengambilan sampel, terlebih dahulu dilakukan persiapan alat dan bahan yang akan digunakan dalam pengambilan sampel. Beberapa alat dan bahan yang perlu disiapkan yaitu :

- a) Alat pengambil sampel air/ *water sampler*  
*Water Sampler* (WS) dari bahan polietilen, polipropilen, polikarbonat, teflon, atau fleksi glass dengan tali pengikat WS dari bahan plastik atau organik. Beberapa jenis alat yang dapat digunakan untuk pengambilan sampel air antara lain : *kemerer*, *varn dom*, *weight bottle*, *nansen*, *niskin*, *water sampler* ataupun botol modifikasi. Pengambilan juga dapat secara langsung dengan menggunakan wadah sampel.
- b) Alat pengambil sedimen  
 Alat pengambil sedimen, berbeda dengan alat pengambil sampel air. Beberapa jenis alat yang digunakan antara lain : *ekman grab*, *venn grab* dan lain lain.
- c) Sarung tangan  
 Untuk mengurangi kontaminasi, gunakan sarung tangan pada saat pengambilan sampel. Sarung tangan yang digunakan adalah sarung tangan plastik.
- d) Tempat sampel.  
 Tempat sampel dari bahan polietilen, khusus untuk Hg dari gelas berwarna gelap, gelas boroksilat dan cawan petri. Cawan petri digunakan untuk tempat sampel seston, jika melakukan penyaringan di lapangan. Sebelum digunakan,

tempat sampel direndam selama 3 hari dalam HCL 8 N kemudian bilas beberapa kali dengan aquabidest/aquadest, bungkus dengan plastik dan simpan.

f) Kertas saring

Kertas yang digunakan adalah kertas saring ukuran pori 0,45  $\mu\text{m}$ . Sebelum digunakan kertas saring direndam selama seminggu dalam HCL 8 N, bilas beberapa kali dengan aquabidest, bungkus dengan plastik dan simpan. Kertas ini digunakan jika melakukan penyaringan di lapangan. Kertas saring terbuat dari bahan teflon, polikarbonat selulosa ester (merk nucleophore, sartorius, miliphore, gelman). Untuk Hg menggunakan kertas saring dari bahan gelas GF/F.

g) Bahan pengawet.

Bahan pengawet perlu dipersiapkan jika lokasi yang diambil tidak memungkinkan untuk segera dilakukan analisa. Bahan pengawet yang digunakan adalah asam nitrat ( $\text{HNO}_3$ ) atau asam klorida (HCL) berkualitas suprapure. Sampel diawetkan hingga  $\text{pH} > 2$ . Selain itu juga dapat menggunakan es sampai suhu  $4^\circ\text{C}$ .

h) Plastik pembungkus

i) Alat tulis

j) cooler box

## 4.2. Pelaksanaan Pengambilan Sampel

### 4.2.1. Pengambilan Sampel Air

Pengambilan sampel air untuk air tawar dan air laut pada prinsipnya sama. Kadar logam berat dalam air umumnya sangat rendah. Hal ini dikarenakan logam berat dalam air akan mengalami proses gravitasi yaitu terakumulasi dalam sedimen dan biota air.

*Pelaksanaan :*

a. Tentukan lokasi pengambilan

Untuk sampel air permukaan di ambil pada kedalaman 1 atau 2 meter bila kedalaman perairan lebih dari 5 meter.

b. Jika menggunakan kapal, air sampel diambil dengan jarak 200 - 500 meter dari kapal.

c. Masukkan alat ke dalam perairan, jatuhkan pemberat agar alat tertutup kemudian tarik tali alat tersebut.

d. Tuang ke dalam botol yang telah dipersiapkan, ambil sampel sebanyak 1000 ml.

e. Catat identitas contoh antara lain : tanggal, lokasi dan paraf pengambil contoh.

f. Dinginkan dengan menggunakan es sampai suhu  $4^\circ\text{C}$ .

#### **4.2.2. Pengambilan seston**

Seston adalah partikel-partikel yang tersuspensi dalam air. Partikel itu sendiri dapat berbentuk organik ataupun anorganik. Partikel organik berasal dari organisme organisme yang hidup di perairan seperti plankton, bakteri dan lainnya. Partikel anorganik berasal dari partikel non jasad hidup seperti partikel partikel tanah. Kandungan seston yang tertinggi umumnya berada di daerah muara sungai.

*Pelaksanaan :*

- a. Tentukan lokasi yang akan di ambil sampelnya.
- b. Ambil sampel air sebanyak 1000 ml.
- c. Masukkan dalam wadah sampel.
- d. Saring sampel air tersebut dengan sistem vakum.
- e. Ambil kertas saring menggunakan pinset teflon dan menjaga keutuhan kertas saring.
- f. Masukkan pada cawan petri.
- g. Dinginkan dengan menggunakan es sampai suhu 4°C.
- h. Catat di identitas contoh tanggal, lokasi, dan paraf petugas pengambil contoh (PPC).

#### **4.2.3. Pengambilan Sedimen**

Konsentrasi logam berat dalam sedimen umumnya tinggi karena logam berat akan mengalami proses akumulasi. Proses akumulasi sedimen semakin meningkat sejalan dengan fungsi daerah sedimentasi sebagai daerah penampungan limbah. Pada daerah sedimentasi tinggi, seperti di muara sungai yang merupakan pembuangan limbah, konsentrasi logam akan semakin meningkat pula.

*Pelaksanaan :*

- a. Tentukan lokasi pengambilan sampel.
- b. Alat (misal venn grab) dibuka, kemudian masukan alat ke titik pengambilan sampel.
- c. Tutup alat pengambil sedimen dengan melepaskan batu pemukul.
- d. Angkat alat secara perlahan.
- e. Ambil sampel sedimen yang tidak bersentuhan dengan dinding grab. Sampel diambil dengan sendok dari bahan polietilen teflon atau pengambilan langsung dengan wadah sampel sebanyak 100 gram.
- f. Masukkan sampel ke dalam wadah sampel.
- g. Catat identitas sampel seperti tanggal, lokasi, dan paraf petugas pengambil contoh (PPC).
- h. Dinginkan dengan menggunakan es sampai suhu 4°C.

#### **4.2.4. Biota**

Biota perairan adalah organisme yang hidup di perairan tersebut. Pengambilan contoh biota dalam pengukuran logam berat, perlu memperhatikan jenis dan ukuran biota yang akan diamati dan bagian tubuh yang akan dianalisa, karena tiap biota memiliki karakteristik yang berbeda terhadap penyerapan ataupun kemampuan mengakumulasi logam-logam yang ada di sekitarnya. Ukuran biota berpengaruh terhadap jangka waktu biota mengakumulasi logam berat. Makin besar ukuran biota, akan semakin lama biota tersebut mengakumulasi logam berat di sekitarnya sehingga mengakibatkan konsentrasi logam semakin tinggi. Sedangkan pada organ-organ tubuh umumnya yang diamati adalah : limpa, usus, lambung, insang dan lainnya atau organ yang memiliki potensi proses akumulasi.

*Pelaksanaan :*

- a. Tentukan lokasi pengambilan sampel.
- b. Ambil biota yang akan dianalisa sebanyak 100 gram.
- c. Jika menggunakan alat (misal venn grab ), ambil biota yang tidak bersentuhan langsung dengan dinding alat.
- d. Biarkan biota hidup selama 24 jam dalam air laut yang bersih untuk membuang kotoran yang terakumulasi pada organ dalam tubuh biota.
- e. Jika melakukan pembedahan untuk mengambil sampel organ, organ sampel diambil dengan pisau dari bahan plastik atau stainless steel.
- f. Masukkan biota yang diambil ke dalam kantong plastik
- g. Catat identitas sampel seperti tanggal, lokasi, dan paraf petugas pengambil contoh (PPC).
- h. Dinginkan sampel pada suhu 4°C.

**BAB V**  
**PENGAWETAN SAMPEL AIR**  
**UNTUK ANALISIS KUALITAS AIR DAN LOGAM BERAT**

Oleh :  
**Nira Sari, Muawanah dan Wahyu Widiatmoko**

Pengawetan sampel untuk parameter tertentu diperlukan apabila setelah pengambilan sampel (di lapangan) tidak dapat langsung dilakukan pengujian. Beberapa parameter kualitas air ada yang memiliki ikatan senyawa yang bersifat tidak stabil dan mudah teroksidasi menjadi senyawa lain (misalnya nitrat dapat berubah menjadi nitrit dan amoniak), selain itu dapat pula terjadi penurunan kadar (*lost*) karena mengendap, menguap atau adsorpsi oleh dinding wadah sampel. Oleh karenanya pengawetan sampel air di lapangan sangat penting dilakukan sebelum sampel sampai di laboratorium. Jenis bahan pengawet yang digunakan dan lama penyimpanan berbeda-beda tergantung pada jenis parameter yang akan diperiksa.

**5.1. Pengawetan sampel untuk analisa kualitas air**

Jenis-jenis pengawetan sampel untuk analisa kualitas air yaitu;

- (i) Pengawetan fisik, misalnya dengan pendinginan.



Gambar 6. Contoh pengawetan fisik

- (ii) Pengawetan kimia :

Bahan kimia yang digunakan untuk pengawetan ini harus memenuhi persyaratan untuk analisa dan tidak mengganggu atau mengubah konsentrasi dan sifat parameter yang akan diuji.



Gambar 7. Bahan kimia pengawet sampel air untuk analisa logam berat

Tabel 1. Jenis Wadah Sampel Air dan Pengawetnya Berdasarkan Parameter Uji

| No. | Parameter                         | Volume / Wadah sampel                                    | Bahan Pengawet                                                                                                       | Lama Penyimpanan            |
|-----|-----------------------------------|----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|
| 1.  | Suhu                              | -                                                        | -                                                                                                                    | <i>In situ</i>              |
| 2.  | pH                                | Poliethilen, Gelas                                       | Pendinginan, 4°C                                                                                                     | <i>In situ</i> atau < 2 jam |
| 3.  | Salinitas                         | Gelas (borosilikat), Poliethilen, (low pressure bottles) | Pendinginan, 4°C                                                                                                     | <i>In situ</i>              |
| 4.  | Oksigen terlarut (metode winkler) | -                                                        | -                                                                                                                    | <i>In situ</i>              |
| 5.  | Amoniak, nitrit dan nitrat        | 100 ml/ Gelas                                            | Dianalisa secepatnya, disaring dan dibekukan pada suhu 4 °C a/ di + 0,8 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> p.a, pH <2 | 4 minggu                    |
| 6.  | Orthofosfat dan silikat           | 100 ml/ Gelas                                            | dianalisa secepatnya, disaring dan dibekukan pada suhu < -20 °C a/ di + 40 mg HgCl <sub>2</sub> /lt.                 | 4 minggu                    |
| 7.  | Khlorofil                         | 500 ml/ Fiber gelas                                      | Saring ditempat                                                                                                      | 7 hari                      |
| 8.  | Alkalinitas, Kesadahan, TOM       | 500 ml/ Poliethilen Gelas                                | Didinginkan                                                                                                          | 7 hari                      |

## 5.2. Pengawetan sampel untuk analisa logam berat

Pengawetan sampel untuk analisa logam berat:

- (i) Hg (raksa) : Sampel air disaring, ditempatkan dalam **botol gelas (borosilikat)** ditambah  $\text{HNO}_3$  pekat sebanyak 3 ml dalam 1 liter contoh air
- (ii) Logam berat lain selain Hg ( Cu, Pb, Fe, Cd, dll) :  
sampel air disaring, ditempatkan dalam **botol polietilen**, diawetkan dengan  $\text{HNO}_3$  / HCl pekat hingga  $\text{pH} \pm 1,5$



Gambar 8. Bahan pengawet untuk analisa logam berat selain Hg

## 5.3. Sumber sumber kontaminasi

Kadar logam berat dalam air laut sangat rendah ( $10^{-5}$  mg/l sampai  $10^{-2}$  mg/l) dan banyak media yang menjadi sumber kontaminasi maka diperlukan suatu perhatian khusus agar data yang diperoleh benar-benar memiliki nilai ketelitian dan akurasi yang tinggi.

### 5.3.1. Jenis wadah sampel

- (i) Wadah sampel yang digunakan untuk analisa logam berat (terkecuali Hg) harus terbuat dari **polietilen**.

*Wadah air yang terbuat dari logam akan menyebabkan sampel terkontaminasi sehingga hasil analisa menjadi lebih tinggi dari kadar sebenarnya. Sedangkan wadah sampel dari gelas menyebabkan sebagian logam berat (kecuali Hg) yang terdapat dalam sampel teradsorpsi pada dinding gelas. Hal ini akan menyebabkan hasil analisa lebih rendah dari kadar sebenarnya yang terkandung dalam sampel.*

- (ii) Untuk analisa logam berat Hg digunakan wadah sampel yang terbuat dari **gelas borosilikat**.

(iii) Sterilisasi wadah sampel

*Sebelum digunakan wadah sampel direndam dalam HCL 8 N selama 3 hari, kemudian dibilas beberapa kali dengan akuades bebas ion dan tempat sampel air tersebut dibungkus dengan kantong plastik.*



Gambar 9. Jenis-jenis wadah sampel air untuk analisa logam berat

**5.3.2. Jenis Alat Pengambil Sampel Air (water sampler)**

Jenis *water sampler* yang digunakan dalam pengambilan sampel air untuk analisa logam berat sebaiknya yang terbuat dari bahan polietilen, polipropilen, polykarbonat, atau teflon. *Water sampler* terbuat dari logam, tidak diperkenankan untuk pengambilan sampel air untuk analisa logam berat. *Water sampler* dari bahan PVC juga mengandung logam Zn, Fe, Sb dan Cu. Pemakaian *water sampler* jenis ini akan menimbulkan hasil analisa lebih tinggi dari kadar yang sebenarnya yang terkandung dalam sampel air.

**5.3.3. Jenis kertas saring dan peralatan penyaringan**

Kertas saring yang digunakan dalam penyaringan sampel air sering mengandung logam berat, sehingga sampel air akan terkontaminasi oleh kertas saring yang digunakan. Sebaiknya menggunakan kertas saring yang kandungan logam beratnya paling rendah yang terbuat dari bahan teflon, polikarbonat maupun selulosa ester, dengan diameter pori 0,45  $\mu\text{m}$ . Sedangkan penyaringan sampel air untuk analisa logam berat Hg menggunakan kertas saring yang terbuat dari bahan gelas, GF/F.

Sebelum digunakan kertas saring direndam dalam larutan HCL 6 N dan dibilas beberapa kali dengan akuades bebas ion.

#### **5.3.4. Cara pengambilan dan pengawetan contoh air**

Sampel air sebelum diberi bahan pengawet, disaring terlebih dahulu. Hal ini bertujuan agar sampel air tidak terkontaminasi akibat larutnya zat padat tersuspensi oleh bahan pengawet.

Penggunaan bahan pengawet seperti asam nitrat dan klorida benar-benar yang supra pure (supra murni) untuk menjaga kontaminasi karena ada bahan pengawet yang juga mengandung logam berat.

#### **5.3.5. Kebersihan ruangan laboratorium**

Di laboratorium senyawa-senyawa logam berat termasuk bahan-bahan yang sering digunakan untuk pembuatan berbagai zat pereaksi dan udara tropis yang banyak mengandung debu, sering menyebabkan terjadinya kontaminasi yang cukup potensial. Untuk mengatasi masalah tersebut maka sangat penting menjaga kebersihan ruangan analisa logam berat. Sampel sebaiknya dalam ruangan tertutup dan terpisah dari analisa sampel air untuk parameter yang lainnya.

**BAB VI**  
**TEKNIK PENGAMBILAN SAMPEL IKAN DAN UDANG**  
**UNTUK PEMERIKSAAN PENYAKIT**

Oleh :

**Rini Purnomowati, Margie Brite, Febri Nugroho, Dwi Perdana Apriady**

Proses pengambilan dan penanganan sampel dari suatu populasi/kesatuan untuk tujuan tertentu harus dilakukan secara terencana, terukur dan mempresentasikan kondisi umum populasi. Hasil dari pengamatan sampel digunakan untuk menduga beberapa sifat dari populasi. Hanya ada satu cara untuk pengambilan sampel yang secara meyakinkan mewakili populasi yaitu *random sampling* (pengambilan sampel secara acak) dimana setiap unit dari populasi mendapat kesempatan yang sama untuk dipilih sebagai sampel (contoh) tanpa memandang kepemilikan, lokasi, ukuran dan sebagainya.

Pada jenis ikan dan patogen tertentu pengambilan sampel dapat dilakukan dengan *lethal sampling* (mematikan sampel) atau dapat pula dengan mengambil material (bahan) tertentu tanpa harus mematikan sampel (*non-lethal sampling*). Apabila telah diketahui secara definitif bahwa organ tertentu merupakan target infeksi suatu jenis patogen, maka untuk sampling induk atau jenis ikan yang bernilai ekonomi tinggi umumnya lebih dikehendaki teknik *non-lethal sampling*. Adapun prinsip pengambilan sampel/contoh dilakukan secara acak dengan pendekatan statistika.

**6.1. Syarat pengambilan sampel :**

- Sampel sejumlah 25 - 30 ekor sudah cukup meyakinkan untuk dapat mendeteksi parasit dengan target prevalensi 10% atau lebih
- Sampel ikan idealnya dalam kondisi segar, atau sebagai alternatif segera dibekukan setelah penangkapan
- Sampel dilumpuhkan atau dibius
- Idealnya monitoring/surveilans dilakukan 2 kali/tahun (penghujan/kemarau)

Untuk kebutuhan Surveilans :

Sampel diambil sesuai standar yang telah dibakukan seperti yang direkomendasikan OIE yaitu sebanyak 2% atau 5% dari nilai prevalensi mencapai 95% dari satu lokasi

atau sesuai tabel. Jumlah sampel untuk penyakit tertentu disesuaikan dengan metode uji jenis penyakit.

Jumlah sampel yang diperlukan untuk deteksi minimal satu spesimen terinfeksi berdasarkan tingkat kepercayaan 95% dalam populasi dengan tingkat prevalensi benih karier yang diasumsikan sebesar 2,5 dan 10, 20, 30, 40, 50%.

**Tabel 2. Jumlah sampel dalam populasi berdasarkan tingkat prevalensi.**

| Populasi  | Tingkat Prevalensi |    |     |     |     |     |     |
|-----------|--------------------|----|-----|-----|-----|-----|-----|
|           | 2%                 | 5% | 10% | 20% | 30% | 40% | 50% |
| 50        | 46                 | 29 | 20  | 10  | 7   | 5   | 2   |
| 100       | 76                 | 43 | 23  | 11  | 9   | 7   | 6   |
| 250       | 110                | 49 | 25  | 10  | 9   | 8   | 7   |
| 500       | 127                | 54 | 26  | 10  | 9   | 8   | 7   |
| 1.000     | 136                | 55 | 27  | 10  | 9   | 9   | 8   |
| 2.500     | 142                | 56 | 27  | 10  | 9   | 9   | 8   |
| 5.000     | 145                | 57 | 27  | 10  | 9   | 9   | 8   |
| 10.000    | 146                | 57 | 27  | 10  | 9   | 9   | 8   |
| 100.000   | 147                | 57 | 27  | 10  | 9   | 9   | 9   |
| > 100.000 | 150                | 60 | 30  | 10  | 9   | 9   | 8   |

Sumber : Amos (1985) dalam OIE (2003)

## 6.2. Pengambilan contoh :

### 6.2.1. Pengambilan sampel/contoh jarak dekat ( $\leq 5$ jam)

- Siapkan wadah (ember/waskom) dan diisi air media secukupnya.
- Tentukan beberapa titik ( 3 kolom) pengambilan contoh berdasarkan dominasi pengambilan benih.
- Ambil beberapa ekor benih ikan atau udang secara acak dengan menggunakan scoopnet atau gayung yang tidak merusak kondisi benih.
- Masukkan benih sampel kedalam wadah yang telah disediakan.

### 6.2.2. Pengambilan sampel/contoh jarak jauh ( $\geq 5$ jam)

- Siapkan wadah (ember/waskom) dan diisi air media secukupnya.

- b. Tentukan beberapa titik ( 3 kolom) pengambil sampel berdasarkan dominasi pengambilan benih.
- c. Ambil beberapa ekor benih ikan atau udang secara acak dengan menggunakan scoopnet atau gayung yang tidak merusak kondisi benih.
- d. Masukkan benih sampel kedalam kantong plastik transparan yang telah disediakan.
- e. Isikan gas oksigen dengan perbandingan antara oksigen dan air 1:1 dan ikat kantong plastik dengan erat menggunakan karet gelang agar tidak bocor.
- f. Masukkan kantong plastik tersebut ke dalam wadah berupa kardus atau styrofoam.
- g. Suhu dipertahankan dalam kondisi stabil ( $25^{\circ}\text{C}$  sampai dengan  $28^{\circ}\text{C}$ ) selama pengangkutan dari tempat pengambilan sampel ke tempat pemeriksaan.

### 6.3. Penentuan Jumlah sampel/contoh

#### 6.3.1. Pemeriksaan Kenormalan

Pengambilan sampel/contoh untuk pemeriksaan kenormalan dilakukan secara acak, dengan jumlah sesuai tingkat kepadatan benih yang umum dalam wadah pemeliharaan seperti tercantum pada Tabel 3.

**Tabel 3. Jumlah sampel benih ikan atau udang yang diperlukan untuk pemeriksaan kenormalan**

| No | Jenis benih  | Jumlah contoh |
|----|--------------|---------------|
| 1. | Udang Windu  | 15-25 ekor    |
| 2. | Bandeng      | 15-25 ekor    |
| 3. | Kakap Putih  | 15-25 ekor    |
| 4. | Kerapu Tikus | 15-25 ekor    |
| 5. | Kerapu Macan | 15-25 ekor    |

#### 6.3.2. Pemeriksaan Penyakit

Sampel/contoh diambil secara acak dari populasi dan jumlah sampel disesuaikan dengan besarnya populasi berdasarkan probabilitas 95% untuk pendekatan minimal 1 spesimen terinfeksi dalam populasi dengan suatu asumsi prevalensi 2%, 5% dan 10% benih karier seperti pada Tabel 2.

## 6.4. Prosedur Sampling

### 6.4.1. Koleksi Spesimen Ikan

#### a. Diagnosa dalam suatu kejadian penyakit

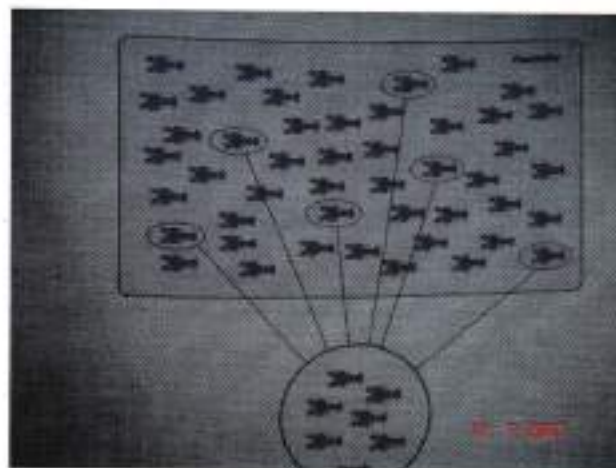
Jumlah minimum sebanyak 10 ekor ikan yang baru saja mati atau 10 ekor ikan yang menandakan gejala sakit dikemas dalam wadah terpisah dan aseptik atau dalam es. Akan tetapi sangat disarankan dan direkomendasikan untuk mengkoleksi sampel organ dari ikan segera setelah diseleksi dari tempat produksi. Identifikasi label termasuk informasi pada tempat dan waktu sampling harus ditempatkan pada sampel.

#### b. Secara klinik ikan tampak normal

Koleksi ikan harus memenuhi jumlah spesimen secara statistik. Tetapi untuk mendeteksi sekelompok patogen dari sampel tidak menjamin agen penyakit itu terdeteksi pada spesimen yang diamati.

Kegiatan survei penyakit didasarkan pada perhitungan jumlah hewan, kolam, farm dan lain sebagainya yang bermasalah dalam hal penyakit dan yang sehat/bersih. Data survei tersebut kemudian digunakan untuk menghitung beberapa ukuran keberadaan penyakit dilihat dari beberapa aspek.

Survei pada populasi yang kecil (sampel) dilakukan untuk memperoleh data yang spesifik tentang suatu populasi. Populasi dapat berupa hewan akuatik, kolam, farm dan lain sebagainya dalam kesatuan (unit) yang membentuk populasi disebut *unit of interest*.



Gambar 10. Gambaran populasi dan unit yang membentuk populasi  
(Sumber : Survey Toolbox for Aquatic Animal Diseases)

## BAB VII

### PREPARASI DAN PENGELOLAAN SAMPEL DALAM PEMERIKSAAN PENYAKIT

Oleh :

Toha Tusihadi, Kurniastuty & Julinasari Dewi

Teknik preparasi dan pengelolaan sampel yang benar merupakan syarat utama dalam keakuratan hasil diagnosa. Kesalahan diagnosa dapat disebabkan oleh kerusakan sampel akibat kekeliruan dalam preparasi dan pengelolaan sampel.

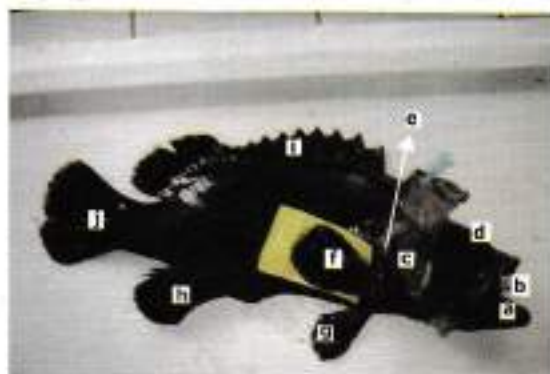
Dalam melakukan preparasi perlu diketahui beberapa pengetahuan dasar. Pengetahuan tentang anatomi dan patologi merupakan dua ilmu dasar yang harus diketahui oleh seorang petugas pengambil sampel, sehingga kesalahan dalam penentuan organ target, teknik preparasi dan perlakuan sampel dapat dihindari.

#### 7.1. Anatomi Ikan

Tubuh ikan disusun oleh beberapa sistem organ. Setiap sistem organ menjalankan fungsi tertentu. Pembahasan pada sub bab ini dititikberatkan pada topografi masing-masing organ.

##### 7.1.1. Ikan Bersirip

Permukaan tubuh ikan dilindungi oleh sisik dan lendir (ada beberapa jenis ikan tidak mempunyai sisik) serta kulit. Bagian tersebut membungkus organ dalam untuk menjalankan fungsi-fungsi tubuh. Organ-organ yang membentuk sistem organ dapat dilihat pada Gambar 11. dan Gambar 12.



Keterangan gambar :

- |              |                   |
|--------------|-------------------|
| 1. Kepala    | 2. Anggota gerak  |
| a. Mulut     | f. Sirip dada     |
| b. Maksila   | g. Sirip perut    |
| c. Mandibula | h. Sirip anal     |
| d. Mata      | i. Sirip punggung |
| e. Insang    | j. Sirip ekor     |

Gambar 11. Gambaran anatomi makroskopik permukaan tubuh ikan bersirip



**Keterangan gambar :**

**1. Organ tubuh pada cavum brachialis**

- a. Thymus
- b. Jantung
- Aorta (tidak tampak)
- Oesophagus (tidak tampak)

**2. Organ tubuh pada cavum abdominalis**

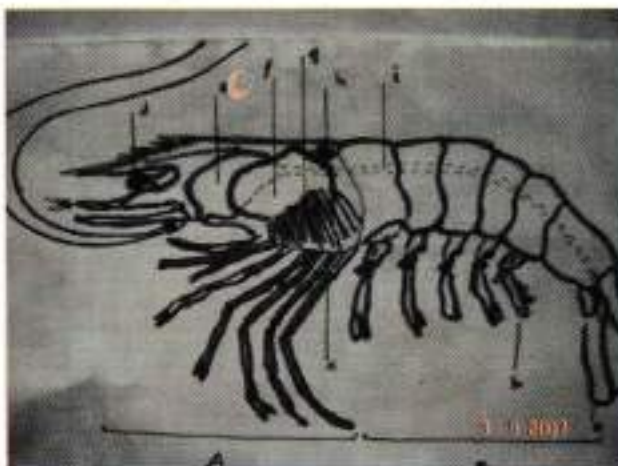
- c. Hati
- d. Gelembung renang
- e. Pyloric caeca
- f. Limpa
- g. Lambung
- h. Ginjal
- i. Tulang belakang
- j. Arteri caudalis
- k. Usus

Gambar 12. Gambaran anatomi makroskopik organ dalam tubuh ikan bersirip

### 7.1.2. Udang

Bagian tubuh udang terdiri atas dua bagian pokok, yaitu cephalothorax dan abdomen. Seluruh bagian tersebut dilindungi oleh karapas. Karapas ini juga berfungsi sebagai rangka tubuh (eksoskeleton). Bagian ujung karapas membentuk tonjolan runcing bergerigi.

Bagian abdomen terdapat 5 pasang pleopoda (kaki renang), anus dan uropoda. Pada bagian dalam abdomen terdapat usus yang memanjang pada sisi dorsal dan hemolimfe pada sisi ventralnya. Pada bagian cephalothorax terdapat 4 pasang kaki jalan dan 1 pasang cheliped (capit). Selain kaki, di cephalothorax juga terdapat insang, sepasang antena, maxilla, mandibula dan mata serta sejumlah organ dalam antara lain esofagus, lambung, hepatopankreas, dan jantung.



**Keterangan gambar :**

Bagian Cephalothorax (A) terdapat organ-organ antara lain : Mata (d), Lambung (e), hepatopankreas (f), insang (g), dan kaki jalan (c). Bagian abdomen terdapat organ-organ antara lain : Uropoda (a), kaki renang (b) dan usus (i).

Gambar 13. Anatomi tubuh udang

## 7.2. Preparasi, Preservasi dan Teknik Pengiriman Sampel

Pemeriksaan penyakit ikan dapat dilakukan dengan beberapa metode pemeriksaan yaitu : Pemeriksaan langsung (*direct microscopy*), Pemeriksaan Mikrobiologi, Pemeriksaan Parasitologi, Pemeriksaan Histopathologi dan Pemeriksaan dengan metode PCR. Perlakuan sampel untuk setiap pemeriksaan memerlukan perlakuan yang berbeda. Bahkan dalam satu metode pemeriksaan, untuk jenis penyakit yang berbeda terkadang membutuhkan perlakuan yang berbeda pula.

### 7.2.1. Preparasi

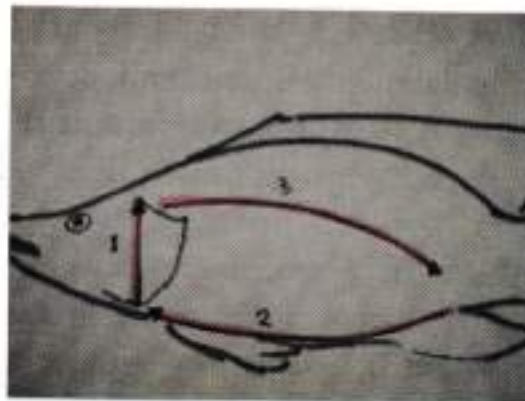
Preparasi merupakan teknik pemisahan spesimen dari tubuh ikan. Spesimen tersebut berupa darah, cairan tubuh maupun organ tubuh.

#### a. *Pengambilan darah dan cairan tubuh.*

Alat yang diperlukan dalam pengambilan cairan tubuh dan darah adalah spuit injeksi. Pengambilan darah dilakukan melalui intracardial (lewat jantung), intra aorta (lewat aorta) atau melalui arteri caudalis. Akumulasi cairan tubuh abnormal paling sering terjadi pada cavum abdominalis dan cavum branchialis. Sedangkan pada udang pengambilan hemolimfe dilakukan melalui arteri abdominalis. Arteri ini terletak memanjang pada bagian ventral abdomen.

#### b. *Pembedahan*

Nekropsi dilakukan untuk dapat memisahkan organ dalam tubuh. Nekropsi dilakukan dengan memotong operculum dan otot daging yang menutupi cavum branchialis dan cavum abdominalis (gambar 14).



Gambar 14. Nekropsi ikan

Keterangan gambar :

Nekropsi dilakukan dengan memotong operculum (1) dilanjutkan dengan memotong otot daging di sepanjang sisi ventral (2) dan sisi dorsal (3) rongga tubuh

**c. Preparasi Organ tubuh.**

Preparasi dapat dilakukan secara langsung dengan menggunakan pisau bedah. Setiap organ dibagi menjadi beberapa bagian sesuai dengan jenis pemeriksaan yang akan dilakukan. Selanjutnya, sebelum pemeriksaan dilakukan, dapat dilakukan fiksasi (pengawetan) dan preservasi (penyimpanan).

**7.2.2. Pengawetan dan Penyimpanan**

Setiap metode pemeriksaan memerlukan teknik penyimpanan (preservasi) dan pengawetan (fiksasi) yang berbeda.

**(i) Pemeriksaan Langsung (*Direct Microscopy* = pemeriksaan langsung/natif).**

Untuk keperluan pemeriksaan langsung dibutuhkan sampel hidup, beku, dalam bentuk preparat tempel/tekan jaringan, preparat ulas/apus dan/atau dalam larutan Buffer Formalin, tergantung tujuan pemeriksaan.

**a. Sampel hidup**

Untuk pengiriman ikan hidup diperlukan teknik pengepakan. Ikan yang dikirim harus tetap hidup sampai tempat tujuan. Cara pengepakan dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut :

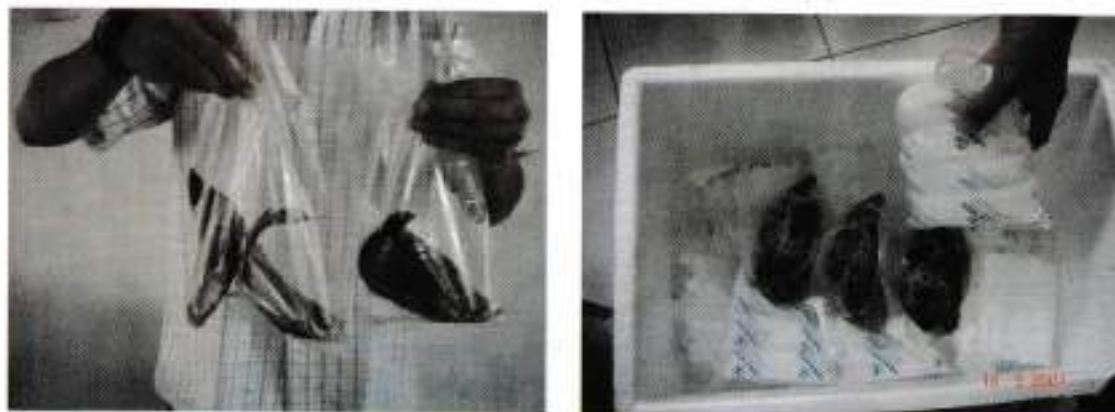
- Ikan diambil dengan mempertimbangkan keterwakilan populasi, setiap sampel dalam populasi yang berbeda ditempatkan dalam wadah yang berbeda. Hal ini dimaksudkan agar tidak terjadi penularan penyakit selama transportasi.
- Ikan diletakkan dalam kantong plastik tertutup yang telah diisi air sebanyak 1/3 volume ikan.
- Tambahkan oksigen dalam plastik untuk mengisi 2/3 bagian kantong.
- Kantong plastik berisi ikan di masukkan dalam styrofoam. Es batu ditambahkan diantara ruang kosong, sehingga suhu dapat dipertahankan antara 25-28 °C.
- Styrofoam ditutup rapat, sehingga menjadi kedap udara.

**b. Sampel beku**

Cara pengawetan beku adalah sebagai berikut :

- Setiap sampel ikan dimasukkan dalam wadah plastik yang berbeda. Hal ini untuk menghindari terjadinya kontaminasi silang mikroorganisme antar sampel.
- Sampel dimasukkan dalam freezer sampai membeku.
- Setelah sampel beku dilakukan pengepakan menggunakan styrofoam. Diantara sampel dapat dimasukkan *dry ice* atau *gell ice*. untuk menjaga

agar sampel tetap dalam kondisi dingin. Apabila kedua materi tersebut tidak ada, penggunaan es batu /es curah harus dilakukan secara hati-hati. Kebocoran pada es yang meleleh dapat mengakibatkan kontaminasi sampel oleh mikroorganisme dalam es dan terjadi kontaminasi silang antar sampel.



Gambar 15. Teknik pengepakan ikan

**Keterangan gambar :**

Setiap sampel ikan ditempatkan dalam wadah yang berbeda (a). Selanjutnya sampel beku diletakkan dalam styrofoam dan diantara sampel diletakkan dry ice, agar sampel tetap beku selama transportasi.

c. Sampel dalam Larutan Fiksatif Buffer Formalin

Pemeriksaan langsung terhadap sampel yang difiksasi dengan larutan buffer formalin terutama dilakukan untuk tujuan pemeriksaan parasit metazoa.

Komposisi Buffer Formalin adalah sebagai berikut :

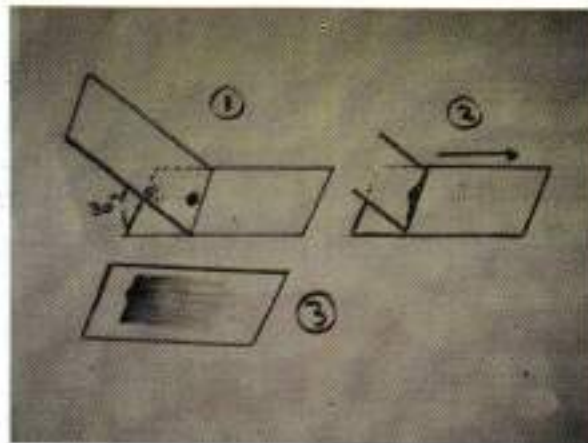
|                            |        |
|----------------------------|--------|
| Formalin                   | 100 ml |
| H <sub>2</sub> O           | 900 ml |
| Sodium Phosphate monobasic | 4 gr   |
| Sodium Phosphate dibasic   | 6,5 gr |

d. Preparat film darah

Pembuatan preparat film/apus/ulas darah dilakukan untuk pemeriksaan natif (langsung) terhadap parasit dan bakteri. Cara pembuatannya adalah sebagai berikut :

- Darah ditetaskan pada salah satu ujung gelas objek 1.
- Tetesan darah pada gelas objek disentuhkan tepat pada bagian belakang gelas objek yang lain (gelas objek 2).

- Gelas objek 2 didorong kearah depan (berlawanan dengan letak tetesan darah), sehingga terbentuk lapisan film darah pada gelas objek 1.
- Preparat film darah dikering-anginkan.
- Setelah preparat kering dilakukan fiksasi dengan menyiramkan methanol pada preparat film. Preparat dikering-anginkan kembali.



Gambar 16. Pembuatan preparat film darah

**Keterangan gambar :**

Darah ditetaskan pada gelas objek 1. Gelas objek yang lain diletakkan diatas gelas objek 1 dengan sudut 30°C (1). Tetesan darah disentuhkan pada bagian belakang gelas objek 2, tanda panah menunjukkan arah usapan(2). Preparat apus darah siap difiksasi.

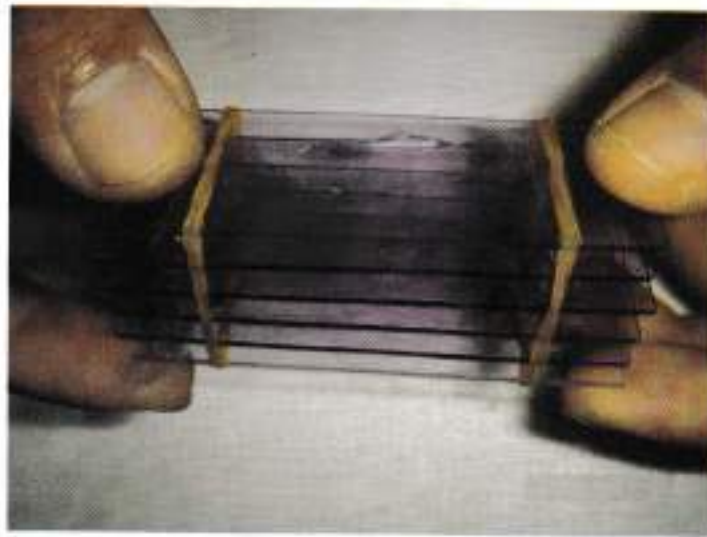
Preparat ini dapat dikirim ke laboratorium terdekat untuk proses pewarnaan atau dilakukan pewarnaan terlebih dahulu, baru kemudian dikirim ke laboratorium. Metode pewarnaannya adalah sebagai berikut :

- Pewarna giemsa diencerkan dengan akuades menjadi larutan giemsa 10% (v/v).
- Preparat film darah direndam dalam larutan giemsa 10 % selama 30 menit.
- Preparat dicuci dengan air mengalir selama kurang lebih setengah menit, dan kemudian dikering-anginkan.

Selanjutnya untuk keperluan pengiriman sampel preparat apus darah ke laboratorium terdekat dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut :

- gelas objek diletakkan pada meja, berfungsi sebagai pelindung bagian bawah.
- Pada gelas objek diletakkan pembatas pada kedua bagian ujung gelas objek.
- Sejumlah preparat dapat diletakkan di atas objek gelas, dengan menambahkan pembatas diantara sampel.

- Pada bagian atas sampel diletakkan gelas objek sebagai pelindung atas.
- Ikat dengan karet gelang.



Gambar 17. Cara penyusunan preparat film darah dan preparat tempel tekan jaringan

e. Preparat tekan/tempel jaringan

Preparat tekan dan tempel jaringan dibuat untuk pemeriksaan parasit dan infeksi bakteri dalam organ tubuh. Cara pembuatan preparat tekan dan tempel jaringan adalah sebagai berikut :

- Organ target disayat tipis dengan pisau bedah steril (berukuran kurang lebih 0,5 mm x 0,5 mm) dan kemudian diletakkan pada permukaan gelas objek.
- Potongan jaringan ditekan dengan menggunakan gelas objek lain dan digeser pada sepanjang objek gelas, sehingga jaringan membentuk lapisan tipis.
- Preparat dikering anginkan dan kemudian difiksasi dengan methanol dan dikering-anginkan kembali.
- Prosedur pewarnaan dan pengiriman sampel sama dengan preparat film darah.

**(ii). Pemeriksaan Histopatologi.**

Pemeriksaan histopatologi bertujuan untuk memeriksa penyakit berdasarkan pada reaksi perubahan jaringan. Fiksasi bertujuan agar jaringan mati secepatnya sehingga tidak terjadi perubahan pasca mati (autolisis post mortem). Larutan fiksatif yang digunakan dalam pemeriksaan ini adalah :

a. Larutan Buffer Formalin

Larutan Buffer Formalin sangat baik untuk pemeriksaan *General Histopathology* (histopatologi umum).

b. Larutan Bouin's

Larutan Bouin's terutama digunakan untuk pengawetan organ-organ keras, yaitu insang, mata dan tulang. Larutan Bouin's dibuat dengan komposisi sebagai berikut :

|                     |        |
|---------------------|--------|
| Picric acid         | 750 ml |
| Formalin 37%        | 250 ml |
| Asam asetat glasial | 50 ml  |

c. Larutan *Non Acidic (RNA Friendly)*

Larutan ini baik untuk fiksasi RNA, tetapi tidak baik untuk pemeriksaan Histopatologi umum. Komposisi larutan terdiri dari :

|                    |        |
|--------------------|--------|
| Ethanol 95%        | 407 ml |
| Formalin 37%       | 349 ml |
| H <sub>2</sub> O   | 222 ml |
| Amonium Hidroksida | 22 ml  |

d. Larutan Davidson

Dalam pemeriksaan Histopatologi pada crustacea, termasuk udang, larutan yang direkomendasikan sebagai larutan fiksatif adalah larutan Davidson. Larutan Davidson terdiri dari :

|                     |        |
|---------------------|--------|
| Ethanol 95%         | 330 ml |
| Formalin 37%        | 220 ml |
| Asam Asetat Glasial | 115 ml |
| H <sub>2</sub> O    | 335 ml |

Cara preparasi organ untuk pemeriksaan Histopatologi adalah sebagai berikut :

a. Ikan kecil bersirip

Otot yang menutup rongga perut dan cavum branchialis disayat, kemudian pada otot daging diinjeksikan dengan larutan fiksatif. Seluruh bagian tubuh ikan dimasukkan dalam larutan fiksatif. Sampel berupa larva langsung dimasukkan dalam larutan fiksatif tanpa penyayatan. Perbandingan ikan dan larutan fiksatif adalah 1:10 (v/v).

b. Ikan besar bersirip

Organ tubuh dipisahkan dalam tubuh, kemudian dipotong dengan ukuran 1 x 1 cm. Pada masing-masing organ diinjeksikan larutan fiksatif. Setelah itu organ-organ tersebut dimasukkan dalam larutan fiksatif. Perbandingan antara organ dan larutan fiksatif adalah 1:10 (v/v).

- c. Benur  
Benur langsung dapat dimasukkan dalam larutan Davidson selama 12-24 jam. Untuk penyimpanan benur dipindahkan ke dalam larutan ethanol 80%.
- d. Udang ukuran kurang dari 5 cm  
Bagian tubuh udang diinjeksi dengan larutan Davidson sebesar 10% dari volume tubuh udang. Selanjutnya udang dimasukkan dalam larutan fiksatif tersebut selama 12-24 jam. Untuk penyimpanan benur dipindahkan ke dalam larutan ethanol 80%.
- e. Udang ukuran lebih dari 5 cm  
Bagian-bagian tubuh udang diinjeksi dengan larutan Davidson sampai warna berubah menjadi oranye – kekuningan. Bagian-bagian tubuh yang diinjeksi adalah cephalothorax, bagian anterior dan posterior abdominal. Banyaknya larutan yang diinjeksikan adalah 10% dari volume tubuh. Untuk penyimpanan udang dilakukan dengan memindahkannya pada larutan ethanol 80%.
- f. Induk Udang  
Pada induk udang dibuat dua sayatan memanjang di sepanjang garis tengah tubuh pada sisi abdominal dan perbatasan cephalothorax, kemudian bagian abdomen (cephalothorax-abdominal junction). Selanjutnya pada bagian-bagian tersebut diinjeksi dengan larutan Davidson. Fiksasi dalam larutan Davidson dilakukan antara 24-72 jam dengan perbandingan volume organ dan larutan fiksatif sebesar 1:10 (v/v). Untuk penyimpanan udang dilakukan dengan memindahkannya pada larutan ethanol 80%.

### ***(iii). Pemeriksaan Bakteriologi dan Parasitologi***

Sampel yang dapat digunakan dalam pemeriksaan Bakteriologi dan Parasitologi adalah sampel beku atau sampel hidup. Untuk pemeriksaan parasit-parasit besar (golongan metazoa) sampel juga dapat diawetkan dalam larutan buffer Formalin.

### ***(iv). Sampel untuk pemeriksaan PCR***

Larutan fiksatif yang direkomendasikan untuk pemeriksaan penyakit dengan metode PCR adalah larutan Ethanol 80%. Organ yang diambil tergantung pada jenis penyakit yang diperiksa, karena organ target untuk masing-masing penyakit berbeda.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alaerts dan Santika S.S., 1987. *Metoda Penelitian Air*. Usaha Nasional. Surabaya.
- Anonim, 1997. *Metode Analisis Air Laut, Sedimen dan Biota Buku 2*. Pusat Penelitian Pengembangan Oseanologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jakarta.
- Anonymous 2000. *Metode Pengambilan Contoh Benih Ikan dan Udang*. SNI : 01-6489-2000.
- Angus Cameron. 2002. *Survey Toolbox for Aquatic Animal Diseases. A Practical Manual and Software Package*. ACIAR. Canberra.
- Anonymous, 2003. *Manual of Diagnostic Test for Aquatic Animals*. OIE, Organitacionale Internationale des Epizootic.
- APHA. 2004. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 21th Edition. Washington.
- Agustini, T. 2007. *Materi Pelatihan Petugas Pengambil Sampel*. BBPBL Lampung. 11-15 juni 2007.
- Boyd, CE., 1982. *Water Quality Management for Pond Fish Culture Development in Aquaculture and Fish Sciene*. Vol. 9 Elsevier Scientific Pub. Comp.
- Clesceri, S., Arnold E. Greenberg, Andrew Deaton. 1998. *Standart Methods. Examination of Water and Waste Water*. 20Th Edition.
- Effendi H., 2000. *Telaahan Kualitas Air, Bagi Pengelolaan Sumberdaya dan Lingkungan Perairan*. Jurusan Manajemen Sumberdaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB.
- Haryadi S., Suryadiputra dan Bambang Widigdo, dkk. \_\_\_\_\_. *Limnologi Metode Analisa Kualitas Air*. Laboratorium Limnologi Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Hutagalung, H.P., Deddy Setiapermana dan S. Hadiriyono. 1997. *Metode analisis air laut, sedimen dan biota*. Buku 2. LIPI. Jakarta.

Hartoto, D.I., 2001. *Peranan Limnologi Dalam Pengembangan Lingkungan Perairan Umum Untuk Pengembangan Budidaya Perikanan*. Makalah Lokakarya Pengelolaan Lingkungan. Direktorat Kesehatan Ikan dan Lingkungan, Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, Departemen Kelautan dan Perikanan, Cisarua, Bogor 16 - 18 Juli 2001